Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. W. Dölle

ERYTHROCYTENEINZELVOLUMEN-VERTEILUNGSKURVEN BEI KANINCHEN UNTER HYPERIMMUNISIERUNG MIT JODALBUMINEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Rüdiger Riveroff
aus
Reutlingen

1977

Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. W. Dölle

ERYTHROCYTENEINZELVOLUMEN-VERTEILUNGSKURVEN BEI KANINCHEN UNTER HYPERIMMUNISIERUNG MIT JODALBUMINEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Rüdiger Riveroff
aus
Reutlingen

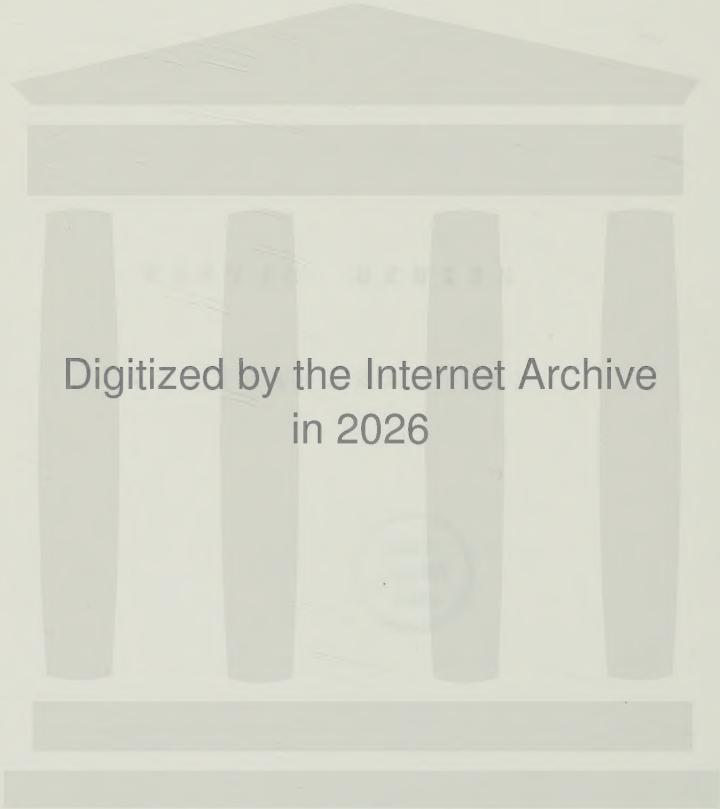
1977

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E. Hoffmeister
Berichterstatter: Professor Dr. E. Kallee
(Professor Dr. W. Dölle)

M E I N E N E L T E R N

I N D A N K B A R K E I T



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523707_0090

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

EINLEITUNG	1
METHODIK	6
A. Versuchstiere	6
B. Hyperimmunisierung	6
C. Blutabnahme	7
D. Elektrolytlösung	7
E. Blutverdünnung	8
F. Meßapparatur	8
G. Ermittlung des EEV-Kurvenmaximums	1o
H. Auswertung der Kurve	11
ERGEBNISSE	11
A. Erythrocytenvolumenverteilungen	11
DISKUSSION	29
ZUSAMMENFASSUNG	33
LITERATURVERZEICHNIS	34

E I N L E I T U N G

Eine spezifische Antikörperbildung entsteht, wenn in den Körper Stoffe gelangen - sei es durch Infektion, sei es auf anderem Wege -, die als fremd erkannt werden. Antikörper sind Immunglobuline, welche die Eigenschaft haben, mit den antigenen Determinanten spezifisch zu reagieren. Antikörperbildung erfolgt als Antwort auf antigene Reize im retikulo-endothelialem System (RES). Von dort aus werden humorale Antikörper in die Blutbahn abgegeben (HUMPHREY und WHITE, 1971). Bei länger andauernder Immunisierung gegen steigende Antigenmengen, auch Hyperimmunisierung genannt, nimmt die Bildung der Immunglobuline im intravasalen System in der Regel zu (WILSON und MILES, 1966).

Die Beziehung zwischen Immunglobulinen, ihren spezifischen Reaktionspartnern und den zellulären Blutelementen ist in vielen Arbeiten untersucht worden. An der Eliminierung von Antigen-Antikörperkomplexen aus dem Blutkreislauf sind zelluläre Blutbestandteile wesentlich beteiligt (SORKIN und WEIGELE, 196o). Leukocyten und Thrombocyten phagocytieren und adsorbieren an ihrer Oberfläche lösliche, im Blutplasma entstandene Antigen-Antikörperprodukte. Den Erythrocyten soll dabei aufgrund ihres multivalenten Bindungsvermögens, ihrer großen Gesamtoberfläche und damit ihrer Adsorptionskapazität eine Reinigungsfunktion im strömenden Blut zukommen. Hierbei werden γ-Globuline als Antikörper in Form eines Immunkomplexes stärker an die Erythrocytenoberfläche gebunden als andere frei gelöste Proteine, die nicht an der Antigen-Antikörperreaktion beteiligt sind. Der gebildete, lösliche Antigen-Antikörperkomplex besitzt also gegenüber der Erythrocytenoberfläche eine größere Adsorptionsneigung, die als spezifische Oberflächenaktivität definiert ist (GRAMLICH und MÜLLER, 1963).

Nach Untersuchungen von SHULMAN (1963) erfährt ein Erythrocyt Schädigungen durch die Adsorption dieser löslichen im Blutplasma entstandenen Antigen-Antikörperprodukte.

Zur Bildung von Antikörpern bedarf es nicht unbedingt eines heterologen Proteins; auch ein Hapten, das sich mit einem körpereigenen Eiweiß verbindet, kann, so zum Vollantigen geworden, diese Immunreaktion eingehen (GEHRMANN, 1969). Hämolytische Zustände sind die Folge dieser Erythrocytenschädigung (DACIE, 1954).

Tabelle I. Anaphylaktische Reaktionen am Erythrocyten nach GRAMLICH (1966)

1. Erythrocyt	+ Hapten ⟶	Vollantigen primär erythrocytenständig	⟵ Antikörper	Immunreaktion primär am Erythrocyten
2. Körpereiweiß	+ Hapten ⟶	Vollantigen secundär erythrocytenständig	⟵ Antikörper	Immunreaktion primär am Erythrocyten
3. Körpereiweiß	+ Hapten ⟶	Vollantigen Immunreaktion im Plasma	⟵ Antikörper	Immunkomplex secundär am Erythrocyten

Die Hämolyse setzt einen Membrandefekt voraus. Für den Reaktionsmechanismus der Antigen-Antikörperkomplementaktivierung auf der Oberfläche der Erythrocyten wurden verschiedene Modelle entwickelt, wobei das SHULMANSCHE (1963) das anschaulichste darstellt und mit der Tabelle I in Einklang zu bringen ist.

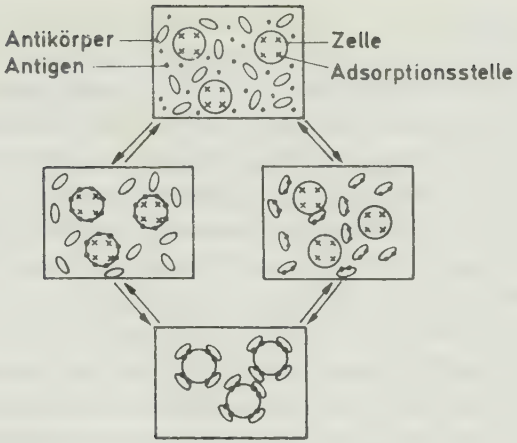


Abb. 1: Modell der Adsorption der Antigen-Antikörper-komplexe an die Erythrocytenoberfläche nach SHULMAN (1963)

Das Modell zeigt zwei Möglichkeiten der Adsorption:

a) Das Antigen verbindet sich zuerst mit der Erythrocytenmembran, erst dann erfolgt die Reaktion mit dem Antikörper.
b) Antigen und Antikörper reagieren primär miteinander; sekundär erfolgt die Adsorption des Komplexes an die Erythrocytenoberfläche.

Im Regelfall besteht ein Ungleichgewicht zwischen Protein- und Ionenkonzentration im Erythrocyten und im umgebenden Plasma. Der Erythrocyt enthält eine höhere Konzentration an makromolekularem Protein als das Plasma. Eine durch Glykolyse gespeiste Kationenpumpe der Erythrocytenmembran ermöglicht die Aufrechterhaltung dieses Ungleichgewichtes. Nach FIRKIN und WILEY (1966) beruht eine initiale Membranschädigung des Erythrocyten durch den Antigen-Antikörper-komplementkomplex in der Schaffung eines Gleichgewichtes zwischen intra- und extrazellulären Ionen. Aufgrund des

höheren osmotischen Druckes im Erythrocyten strömt nun Wasser in ihn ein. Infolgedessen schwillt der Erythrocyt, und seine Membran reißt ein. Wenn die Einrisse und Läsionen der Membran ein bestimmtes Ausmaß erreicht haben, kommt es zur Hämolyse mit Austritt des Hämoglobins. Eine Zunahme des Erythrocytenvolumens kann also ein Parameter zur Erfassung einer beginnenden Hämolyse sein. Kommt es nun zu einer hämolytischen Anaemie immunogenen Ursprungs, so muß daraus auch eine Zunahme des Erythrocyteneinzelvolumens (EEV) resultieren. Die durch den immunologischen Vorgang geschädigten Erythrocyten haben eine verkürzte Lebensdauer. Ein vermehrtes Zugrundegehen von Erythrocyten hat eine vermehrte Ausschwemmung von Blutzellen aus dem Knochenmark zur Folge. Mit dieser vermehrten Blutzellenausschwemmung steht das Phänomen der partiellen Makrocytose in engem Zusammenhang. Neben Retikulocyten, die infolge ihres größeren Wassergehaltes bereits einen größeren Durchmesser und ein größeres Zellvolumen haben, kommen nach und nach makrocytäre Formen vor, die durch Überspringen von Reifeteilungen entstanden sind (GEHRMANN, 1969). Der Nachweis einer Makrocytose kann bei der Bestimmung des mittleren Zellvolumens (MCV "Mean Cell Volume") nicht immer erbracht werden, da die Makrocytose zum Beispiel durch gleichzeitige Mikrosphärocytose kompensiert sein kann. Die Bestimmung des EEV ist in einem solchen Fall aufschlußreicher.

Das EEV wird heutzutage mit einem Coulter Counter^{R} mit nachgeschaltetem Impulshöhenvielkanalanalysator bestimmt. Das Prinzip des Coulter-Gerätes besteht darin, daß in einem elektrisch leitfähigen Material suspendierte Partikel durch eine Kapillaröffnung gesaugt werden, deren Querschnitt den Widerstand eines Gleichstromkreises in erster Linie bestimmt. Sobald ein Partikelchen die Öffnung passiert, steigt der Widerstand in dem System vorübergehend an.

Die Größe der Widerstandsänderung ist jeweils proportional dem Teilchenvolumen. Jede Erythrocytenpopulation gibt je nach ihrem Volumen Impulse verschiedener Höhe, die in 1oo getrennten Kanälen des Impulshöhenvielkanalanalysators gespeichert werden (WECHSELBERGER, 197o). Jedem Widerstand ist ein bestimmter Impulswert zugeordnet. Die Analyse der Einzelimpulshöhen ergibt die Volumenverteilungskurve. Die Aufnahme einer EEV-Kurve geschieht auf diese Weise innerhalb einer Zeitspanne von o,5 - 1 Minute, wobei die Zählrate pro Kanal im Maximum der Verteilung je nach Zellkonzentration des Blutes zwischen 2ooo und 1oooo liegt (WECHSELBERGER, 197o). Während dieser gesamten Zeit können bei einem Meßvolumen von o,5 ml bis zu 2ooooo Partikel gezählt und im Vielkanalanalysator gespeichert werden (JACOBI, 1967). Durch die hohe Zahl von 1ooooo - 2ooooo Impulsen je Zählung resultiert eine sehr geringe statistische Fehlerbreite. Da die EEV-Verteilungskurve keine reine Gaußverteilung darstellt, sondern noch eine "Schulter" im rechten Kurvenschenkel besitzt, muß das maximal vorkommende EEV durch ein geometrisches Verfahren festgelegt werden (KALLEE u. WECHSELBERGER, 1971).

In der vorliegenden Arbeit sollte nun untersucht werden, ob eine Veränderung der EEV-Kurven an Kaninchen festzustellen ist, die mit homologen und heterologen Jodalbuminen hyperimmunisiert worden sind. Hierbei wurden die mit Hilfe des Coulter Counters^{R} ermittelten EEV-Kurven der Versuchstiere gegenüber einer Kontrolltiergruppe verglichen.

METHODIK

A) Versuchstiere

Für die Versuche wurden Kaninchen beiderlei Geschlechts mit einem durchschnittlichen Gewicht von 45oo g verwendet.

B) Die Kaninchen wurden nach folgendem Schema mit jodierten Albuminen hyperimmunisiert (RIEGER, 1975).

				Antigenmenge
1. Tag:	o,o875	ml	i.v.	
	o,o875	ml	s.c.	7 mg
3. Tag:	o,125	ml	i.v.	
	o,125	ml	i.m.	1o mg
5. Tag:	o,25	ml	i.v.	1o mg
7. Tag:	o,35	ml	i.v.	14 mg
9. Tag:	o,525	ml	i.v.	21 mg
11. Tag:	o,6	ml	i.v.	24 mg
13. Tag:	o,65	ml	i.v.	26 mg
15. Tag:	o,7	ml	i.v.	28 mg
17. Tag:	o,775	ml	i.v.	31 mg
19. Tag:	o,875	ml	i.v.	35 mg
21. Tag:	o,95	ml	i.v.	38 mg
23. Tag:	1,o5	ml	i.v.	42 mg

Als Antigen wurde 1o%ig jodiertes Human- und Kaninchenalbumin verwendet. Um die intravenösen Injektionen und die Blutabnahme zu erleichtern, wurden die Kaninchenohren partiell enthaart. Vor der Injektion und Blutabnahme wurde die Haut an der beabsichtigten Einstichstelle mit dem Lokalanaesthetikum Lidocain (Xylocain-Spray^{R}) anaesthesiert. Die intravenösen Injektionen wurden mit Kanülen des Kalibers 17 x 42 durchgeführt.

C) Blutabnahme

Die Blutabnahme aus der Ohrarterie des Kaninchens erfolgte mit 5-ml-Spritzen und Kanülen des Kalibers 2. Das entnommene Blut wurde sofort in EDTA-Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht) gefüllt und durch Drehen mit dem an die Wand aufgedampften EDTA in Verbindung gebracht. Das äthylendiamintetraessigsaure Natrium (EDTA) ist ein Chelatbildner und verhindert durch die Bindung des Serumcalciums die Blutgerinnung. Die ersten EEV-Kurven wurden unmittelbar vor Beginn der Hyperimmunisierung erstellt. Vom 7. oder 9. Tag an bis Ende der Hyperimmunisierung wurde in zweitägigen Abständen, jeweils vor der Antigeninjektion, Blut entnommen. Nach Abschluß der Hyperimmunisierung erfolgten nach 3- oder 5tägiger Pause noch 5 oder 4 weitere Blutentnahmen in zweitägigen Abständen. Am 19., 21. und 23. Tag der Hyperimmunisierung wurden 3 ml Blut sofort nach der Entnahme 5 Minuten lang bei 9oo$\bar{g}$ zentrifugiert und das Serum grob qualitativ auf seinen Hämolysegrad untersucht. Eine quantitative Hb-Bestimmung des Serums ist aus technischen Gründen und aufgrund der Serumtrübung durch triglyceridreiche Lipo-Proteine sehr schwierig. Mit dem am Schluß gewonnenen Antikörperserum wurde deshalb noch ein Verfahren zur Bestimmung des Hb-Gehaltes im Serum erprobt.

D) Elektrolytlösung

In der Literatur über den Coulter Counter^{R} wurden verschiedene Zusätze zur physiologischen Kochsalzlösung, die zum Teil zur Pufferung auf einen pH von 7,2 dienen, angegeben. Empirisch erwies sich folgende Elektrolytlösung am geeignetsten (WECHSELBERGER, 197o):
9o g NaCl gelöst in 1o l hochgradig entsalztem Wasser, mit 3,o25 g Trishydroxyaminomethan in 5o ml Wasser (= o,5-m-Trispuffer) versetzt. Ein pH von 7,4 wurde mit 6 ml 3%iger Titriplex-Lösung und ca. 4o ml o,5-n-HCL erreicht.

Anschließend erfolgte eine Filtration über eine Berkefeld-Tonfilterkerze, um den Leerwert möglichst niedrig zu halten. Zur Gewinnung hochgradig entsalzten Wassers wurde entsalztes Wasser aus dem Klinikrohrnetz mittels einer Ministil^{R}-Mischbettaustauscher-Patrone (T. Christ, Basel/W. Werner, Köln) nachentsalzt.

E) Blutverdünnung

Die Blutproben wurden unmittelbar vor Meßbeginn zunächst 1 : 5oo, dann nochmals 1 : 2oo (= Endverdünnung 1 : 1ooooo) mit der gepufferten Elektrolytlösung verdünnt. Diese Endverdünnung wurde während der ganzen Versuchsreihe beibehalten, um den Beitrag von Koinzidenzen zur Rechtsschiefe der Volumenverteilung vernachlässigen zu können. Die Verdünnung 1 : 1ooooo wurde gewählt, weil mit Normalblut bei einer Verdünnung von 1 : 5oooo eine Verschiebung von zwei Kanälen gegen den asymptotischen Wert auftreten kann.

F) Meßapparatur

Als Meßwertgeber für das EEV diente ein Coulter Counter^{R}, Modell A med (Coulter Electronics, Hüls bei Krefeld). Dieser liefert volumenproportionale Spannungsimpulse, die an geeigneter Stelle im Gerät abgegriffen und zur weiteren Verarbeitung auf einen Vielkanal-Impulshöhenanalysator (FHT 4oo Frieseke u. Hoepfner GmbH, Erlangen) übertragen werden. Der Vielkanalanalysator kann in 1oo Kanälen 1oo verschiedene Impulsstärken gleichzeitig addieren und speichern. Die Aufnahme einer EEV-Kurve geschieht in o,5 - 1 Minute, wobei die Zählrate für einen Kanal auf $1o^{4}$ Impulse beschränkt war. Eine Messung war also beendet, wenn einer der hundert Kanäle $1o^{4}$ Impulse aufgenommen hatte. Die kurze Meßzeit wurde gewählt, um merkliche Zählveränderungen durch Stromeinfluß zu vermeiden (WECHSELBERGER, 197o) und das Ergebnis nicht zu verfälschen.

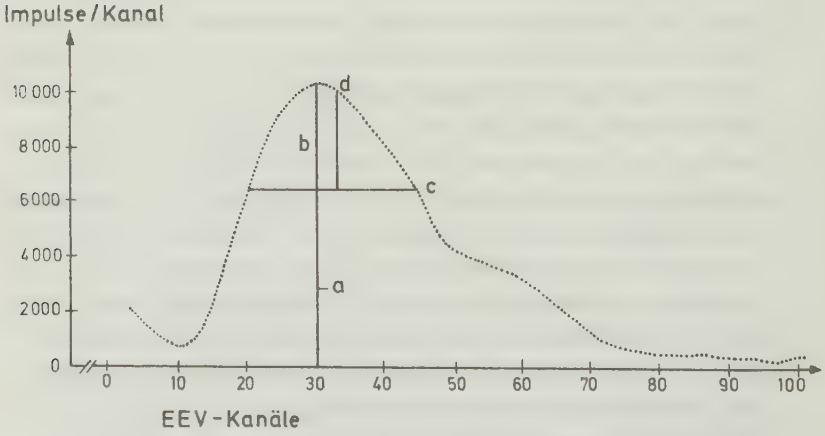
Eine geringe statistische Fehlerbreite wird durch die große Anzahl der Kanäle und die hohe Impulszahl pro Kanal gewährleistet. Der verwendete Impulshöhenanalysator kann 4 x 1oo Kanäle, d.h., 4 Volumenverteilungskurven speichern. Die Anpassung des Coulter Counters an den Vielkanalanalysator bereitete im Hinblick auf die Impulsanstiegszeit Schwierigkeiten, da sie um den Faktor 1o zu groß war. Aus diesem Grund wurde ein impulsformender Linearverstärker (Hamner/Harshaw, Frankfurt/Main) zwischengeschaltet, der die Anstiegszeit (1 µsec) verringerte.

Die gespeicherten EEV-Kurven wurden von einem X-Y-Punktdrucker (Moseley Autograph, Hewleit Packard, Böblingen) auf DIN-A-4-Papier ausgedruckt. Da die Impulsverstärkung von der Polung des Elektrolytstromes abhängt, wurden alle Verteilungskurven bei der gleichen Polung erstellt (WECHSELBERGER, 197o). Die Polung wurde mit einem Strommeßgerät kontrolliert. Ein großes Problem stellte die Eichung des Coulter Counters^{R} dar, da temperaturbedingte Leitfähigkeitsänderungen der Elektrolytlösung die EEV-Kurven nach rechts oder links verschieben können. o,7^{o}C entsprechen einer noch meßbaren Verschiebung von einem halben Kanal (WECHSELBERGER, 197o). Aus diesem Grunde konnte die Ausgangskanallage nicht mit der Endkanallage am Ende des Versuches verglichen werden. Deshalb wurden an jedem Meßtag neue Kurven von den Kontrolltieren angefertigt. Als Bezugspunkt für eine etwaige Änderung der EEV-Kurven bei den Versuchstieren wurde die Differenz zwischen Versuchs- und Kontrolltieren gewählt. Das Lumen der Meßkapillare wurde während des Meßvorganges mit Hilfe eines eingebauten Mikroskopes kontrolliert, weil durch eine Lumenverengung während der Messung der Widerstand zunimmt und die Verteilungskurve infolge der Widerstandszunahme nach rechts abdriftet.

G) Ermittlung des EEV-Kurvenmaximums

Die Kanallage der häufigsten EEV-Population wurde ermittelt, indem zunächst die Gipfelhöhe gemessen wurde (= a). Von diesem Maximum aus wurde das oberste Drittel der Strecke a abgetragen (= b). Durch diesen Punkt wurde eine Horizontale vom ansteigenden zum absteigenden Kurvenschenkel gezogen (= c). Durch Halbierung der Horizontalstrecke c ergab sich die gesuchte Kanallage (= d).
(Im vorliegenden Beispiel entspricht d einer mittleren Kanallage von 31 Kanälen). Das skizzierte Auswertungsverfahren dürfte trotz aller Vorbehalte insbesondere bei stark asymmetrischen Verteilungskurven exaktere Werte liefern als die bloße Interpolation des Gipfelmaximums (KALLEE u. WECHSELBERGER, 1971).

Abb. 2: Schematische Skizze zur Ermittlung des EEV-kurvenmaximums



H) Auswertung der Kurve

Es wurden die Kurvenmaxima ermittelt und die Mittelwerte der Kurvenmaxima der Versuchstiere mit denen der Kontrolltiere verglichen und graphisch in einer Differenzkurve, die durch Subtraktion beider Maxima entstanden ist, dargestellt.

E R G E B N I S S E

Es wurden 27 Tiere in zwei Versuchsgruppen zu je 11 Tieren und 5 Kontrolltieren aufgeteilt. 11 Tiere wurden mit 1o%ig jodiertem Kaninchenalbumin (= Versuchsgruppe I = K.A.-Tiere), ebenfalls 11 weitere Tiere mit 1o%ig jodiertem Humanalbumin (= Versuchsgruppe II = H.A.-Tiere) hyperimmunisiert. Die Injektionen wurden immer, wie die Blutabnahme, zur gleichen Tageszeit vorgenommen. Während des Versuches starben zwei Tiere an einem anaphylaktischen Schock (13. Tag - H.A. Nr. 1o, 23. Tag - H.A. Nr. 11). Bei dem Versuchstier Nr. 7 aus der Gruppe I, war während des Versuches eine hochgradige Linksverschiebung an den EEV-Kurven festzustellen; diese war auf eine generelle Erkrankung (Mikrocytose mit Eisenmangelanaemie) zurückzuführen. Dieses Tier wurde bei der Gesamtauswertung der Kurven nicht berücksichtigt. Bei den anaphylaktischen Versuchstieren waren kaum Hämolysezeichen im Serum festzustellen.

A) Erythrocytenvolumenverteilungen

Von dem entnommenen Blut der Versuchstiere wurde die Kanallage der jeweils am häufigsten vorkommenden Populationen von EEV (Einzelerythrocytenvolumina) ermittelt. Die EEV-Kurven der Versuchstiere wurden mit den EEV-Kurven der Kontrolltiere verglichen, von denen jeweils am selben Tag wie von den Versuchstieren Kurven erstellt wurden.

Anschließend wurden die Mittelwerte der Versuchstiergruppen und der Kontrolltiergruppe subtrahiert und in einer Differenzkurve graphisch dargestellt. Mit diesem Verfahren wurde ein absoluter Bezugspunkt geschaffen, um festzustellen, ob sich das EEV der Versuchstiere gegenüber dem EEV der Kontrolltiere verändert hat. Aufgrund temperaturbedingter Leitfähigkeitsänderungen der Elektrolytflüssigkeit (WECHSELBERGER, 197o) kann das Maximum der Anfangskurve nicht mit dem Maximum der Endkurve verglichen werden. Durch dieses Verfahren werden jedoch nicht die absoluten maximalen Erythrocytenvolumina, sondern die relativen Veränderungen festgestellt.
Gegenwärtig ist es noch nicht möglich, die Einzelvolumina von Erythrocyten in Größenklassen mit Angabe der absoluten Volumeneinheiten einzuteilen (KALLE u. WECHSELBERGER, 1971). Form, Länge und Durchmesser der Meßkapillaren sowie die Stromstärke können die Gestalt der Kurven beeinflussen. Da es zur Zeit noch keine geeigneten scheibenförmigen Testpartikelchen gibt, nur stift- oder kugelförmige (FISCHER, 197o), werden die EEV-Kurven im allgemeinen mit dem Testblut von willkürlich als normal klassifizierten Spendern verglichen. Dieses Bezugssystem ist als unbedenklich anzusehen, solange ein stets gleichbleibender Spender - die Kontrolltiere für den Versuch - frische Testerythrocyten liefert.

B) Versuchsgruppe I

Zu Beginn der Hyperimmunisierung wiesen die Versuchstiere ein kleineres EEV auf als die Kontrolltiere. In den ersten neun Tagen nach Beginn der Hyperimmunisierung trat bei den Versuchstieren eine Rechtsverschiebung von ca. 1,6 Kanälen auf. Vom 11. - 21. Tag erfolgte abwechselnd eine geringe Zu- und Abnahme der Kanäle. Vom 23. - 26. Tag erfolgte ein sprunghafter Abfall um ca.

1,1 Kanäle. Vom 26. zum 28. Tag erfolgte ein sprunghafter Anstieg um ca. 2,8 Kanäle. Ab dem 3o. Tag war ein kontinuierlicher Abfall der Kurve zu verzeichnen. Die mittlere maximale Verschiebung betrug ca. 2,8 Kanäle im Vergleich zur Ausgangskanallage.

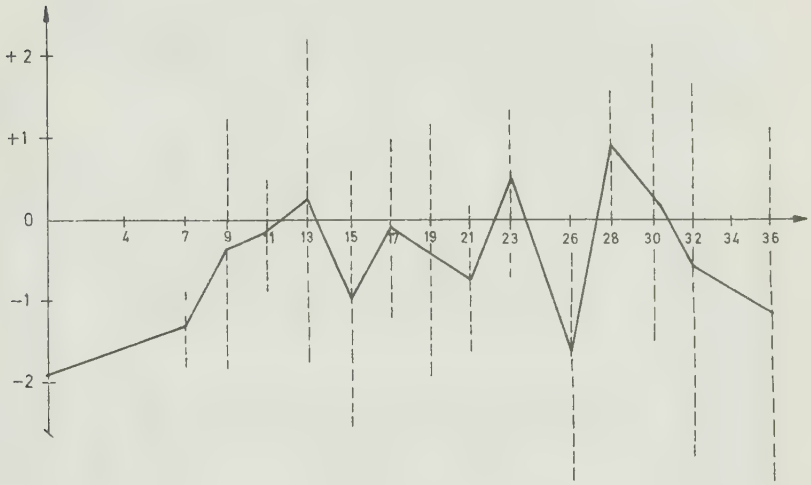


Abb. 3 Differenzkurve der Versuchsgruppe I gegenüber den Kontrolltieren
Antigen: 1o %-jodiertes Kaninchenalbumin (K.A.)

Abszisse: Tage der Hyperimmunisierung

Ordinate: Absolute Differenz gegenüber den Kontrollen

Standardabweichung------

C) Versuchsgruppe II

Vom Versuchsbeginn bis zum 15. Tag war ein Anstieg um ca. 2 Kanäle sichtbar. Nach einem Abfall bis fast zum Ausgangswert am 17. Tag, war am 19. Tag wieder ein Anstieg festzustellen. Am 23. Tag war der steilste Abfall zu verzeichnen, am 3o. Tag der steilste Anstieg um ca. 2,2 Kanäle. Ab dem 3o. Tag erfolgte ein kontinuierlicher Abfall der Kurve. Die mittlere maximale Verschiebung betrug bei dieser Versuchsgruppe im Vergleich zur Ausgangskanallage 2,2 Kanäle.

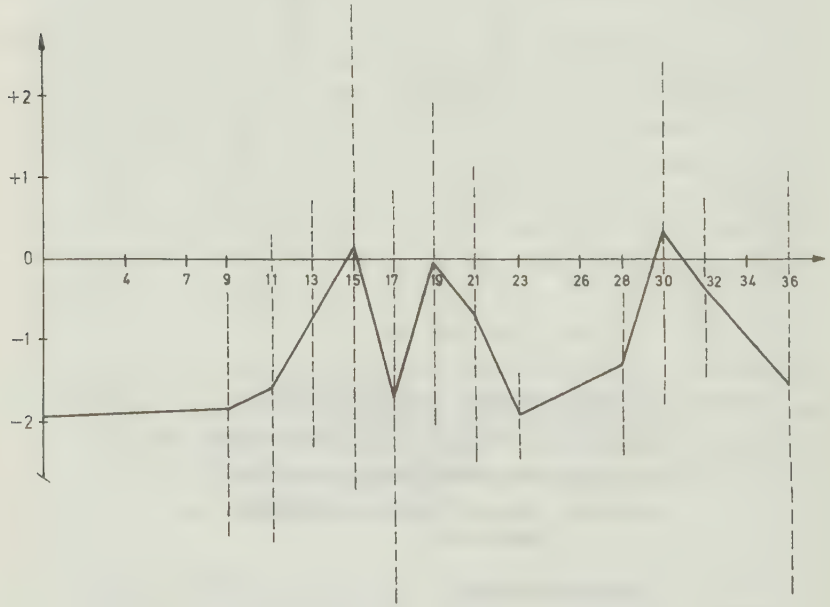


Abb. 4 Differenzkurve der Versuchsgruppe II gegenüber den Kontrolltieren
Antigen: 1o %-jodiertes Humanalbumin (H.A.)

Abszisse: Tage der Hyperimmunisierung
Ordinate: Absolute Differenz gegenüber den Kontrollen
Standardabweichung - - - - -

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen ,
bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für K.A.-Versuchstiere

Versuchstiere

TAG: ⟶ / Tier Nr.	o	7	9	11	13	15	17	19
1	25,7	25,7	25,5	25,1	25,1	26,3	26,8	23,5
2	23,1	24,3	24,7	23,9	25,9	23,9	25,5	24,7
3	24,4	23,9	25,1	25,1	26,8	25,5	25,1	23,3
4	23,3	23,9	24,3	24,3	23,5	23,1	24,7	22,6
5	23,2	25,3	25,9	24,3	26,9	26,3	25,5	23,9
6	24,7	23,9	22,6	22,2	22,6	22,6	22,8	21,4
7+	22,1	22,6	21,8	21,2	2o,6	22,1	18,9	18,9
8	23,5	24,1	25,5	24,7	23,5	23,9	25,5	21,8
9	24,7	25,1	25,9	23,9	24,7	24,7	25,9	24,3
1o	25,5	24,9	27,4	24,7	25,1	25,5	25,5	23,9
11	25,9	24,1	25,9	24,3	24,7	24,3	24,7	22,6
Mittelwert	24,4	24,5	25,3	24,3	24,9	24,6	25,2	23,2
Standardabweichung	±1,6	±o,5	±1,6	±o,7	±2,o	±1,6	±1,1	±1,6
Diff.gegenüber den Kontrollen	-1,92	-1,4	-o,3	-o,2	+o,3	-1,o	-o,1	-o,4

+ Versuchstier Nr. 7 wurde für die Gesamtauswertung nicht berücksichtigt, da es während des Versuches erkrankte.

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für K.A.-Versuchstiere

Versuchstiere

TAG: ⟶ / Tier Nr.	21	23	26	28	3o	32	36
1	23,9	23,3	24,1	2o,6	21,8	22,o	23,5
2	24,3	22,2	23,9	2o,6	21,4	23,1	2o,8
3	24,7	23,1	23,5	2o,8	21,2	21,8	21,o
4	24,3	21,4	22,2	19,1	18,9	19,6	19,3
5	25,1	23,5	23,9	21,o	2o,8	22,4	2o,o
6	22,2	21,o	21,4	19,3	21,8	21,8	18,9
7+	-	17,3	17,5	15,4	14,8	15,2	14,8
8	22,6	2o,9	2o,6	19,3	18,1	18,1	18,7
9	23,5	22,o	23,5	21,o	2o,6	2o,o	19,3
1o	23,9	21,8	21,8	21,2	2o,6	21,o	21,o
11	22,6	21,8	22,2	19,8	18,7	22,1	18,5
Mittelwert	23,7	22,1	22,7	2o,3	2o,4	21,2	2o,1
Standardabweichung	±o,9	±o,9	±1,6	±o,7	±1,8	±2,3	±2,3
Diff.gegenüber den Kontrollen	-o,7	+o,5	-1,6	+o,9	+o,3	-o,6	-1,1

+ Versuchstier Nr. 7 wurde für die Gesamtauswertung nicht berücksichtigt, da es während des Versuches erkrankte.

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für H.A.-Versuchstiere

Versuchstiere

TAG: ⟶ / Tier Nr.	o	9	11	13	15	17	19
1	13,3	24,3	25,7	25,5	25,1	24,7	25,7
2	13,4	25,3	25,1	24,3	27,2	25,9	26,3
3	13,2	21,4	22,6	22,6	21,8	21,4	22,6
4	13,6	23,1	23,9	23,1	22,6	23,5	24,7
5	13,4	25,1	25,8	25,9	25,1	25,7	26,8
6	13,o	24,9	22,6	24,1	25,9	23,7	24,3
7	12,8	25,1	23,5	23,1	26,3	23,1	25,9
8	13,4	23,9	23,1	23,1	23,3	24,3	26,3
9	12,4	24,7	25,1	23,1	25,7	24,9	26,3
1o	14,o	24,3	24,3	24,3	-	-	-
11	12,3	22,2	21,8	22,o	24,3	21,4	23,5
Mittelwert	13,16	24,o3	23,95	23,74	24,73	23,86	25,24
Standardabweichung	±o,26	±1,6	±1,85	±1,5	±3,o	±2,5	±2,o
Diff. gegenüber den Kontrollen	-1,94	-1,87	-1,6	-o,8	+o,1	-1,7	-o,1

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für H.A.-Versuchstiere

Versuchstiere

TAG: ⟶ / Tier Nr.	21	23	28	3o	32	36
1	23,5	23,1	23,1	2o,8	2o,2	2o,2
2	23,9	23,1	24,3	21,8	21,o	21,4
3	21,4	23,1	22,6	18,9	18,5	21,8
4	22,2	22,2	21,8	17,7	18,1	16,5
5	25,9	22,6	24,7	2o,2	2o,2	19,8
6	23,5	23,3	23,3	21,o	2o,3	19,3
7	22,6	22,6	22,6	18,5	2o,4	19,8
8	21,8	21,4	21,4	18,1	18,5	18,1
9	23,1	22,6	23,o	2o,6	2o,2	19,8
1o	-	-	-	-	-	-
11	21,8	21,4	-	-	-	-
Mittelwert	22,97	22,54	22,98	19,73	19,71	19,63
Standardabweichung	±1,8	±o,5	±1,1	±2,1	±1,1	±2,6
Diff. gegenüber den Kontrollen	-o,7	-1,9	-1,3	+o,3	-o,4	-1,5

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für Kontrolltiere von H.A.-Versuchstieren

Kontrolltiere (H.A.)

TAG: ⟶	o	9	11	13	15	17	19	21
Tier Nr.								
1	16,1	27,6	26,8	26,8	25,5	27,2	27,o	25,5
2	14,o	25,9	25,5	24,3	24,1	27,2	26,3	23,9
3	16,o	27,o	26,8	25,9	25,1	25,7	24,3	23,5
4	13,8	23,5	23,1	22,2	23,3	24,7	23,1	22,6
5	15,6	25,5	25,7	23,5	25,1	23,1	25,9	22,6
Mittelwert	15,1	25,9	25,6	24,5	24,6	25,6	25,3	23,6
Standardabweichung	±1,2	±2,5	±2,3	±3,4	±o,8	±3,1	±2,5	±1,4

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für Kontrolltiere von K.A.-Versuchstieren

Kontrolltiere (K.A.)

TAG: ⟶	o	7	9	11	13	15	17	19
Tier Nr.								
1	27,6	27,6	26,8	26,8	25,5	27,2	27,o	25,5
2	26,8	25,9	25,5	24,3	24,1	27,2	26,3	23,9
3	27,6	27,o	26,8	25,9	25,1	25,7	24,3	23,5
4	23,9	23,5	23,1	22,2	23,3	24,7	23,1	22,6
5	25,7	25,5	25,7	23,5	25,1	23,1	25,9	22,6
Mittelwert	26,3	25,9	25,6	24,5	24,6	25,6	25,3	23,6
Standardabweichung	±2,4	±2,5	±2,3	±3,4	±o,8	±3,1	±2,5	±1,4

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für Kontrolltiere von H.A.-Versuchstieren

Kontrolltiere (H.A.)

TAG: ⟶	23	28	3o	32	36
Tier Nr.					
1	25,3	24,3	2o,6	2o,2	2o,4
2	24,7	23,5	18,9	2o,2	2o,6
3	25,1	25,5	2o,4	2o,4	22,6
4	22,2	23,3	17,3	19,3	2o,6
:	24,7	24,7	19,8	2o,2	21,6
Mittelwert	24,4	24,3	19,4	2o,1	21,2
Standardabweichung	±1,6	±o,8	±1,8	±o,2	±o,9

Kanallage der Werte für das maximale Erythrocytenvolumen, bestimmt aus der Volumenverteilungskurve für Kontrolltiere von K.A.-Versuchstieren

Kontrolltiere (K.A.)

TAG: ⟶	21	23	26	28	3o	32	36
Tier Nr.							
1	25,3	22,2	24,3	2o,6	2o,2	22.o	2o,4
2	24,7	21,4	23,5	18,9	2o,2	2o,o	2o,6
3	25,1	22,6	25,5	2o,4	2o,4	22,9	22,6
4	22,2	19,8	23,3	17,3	19,3	21,8	2o,6
5	24,7	22,2	24,7	19,8	2o,2	22,4	21,6
Mittelwert	24,4	21,6	24,3	19,4	2o,1	21,8	21,2
Standardabweichung	±1,6	±1,3	±o,8	±1,8	±o,2	±1,2	±o,9

Die Abbildungen 5 bis 11 stellen die Kurven der Einzeltiere dar.
Abbildungen 5 bis 7: Kurven der Versuchsgruppe I
Abbildungen 8 bis 11: Kurven der Versuchsgruppe II

Die größten Verschiebungen hatten die Tiere:

K.A.	2	+ 4,5 Kanäle	K.A.	3	+ 4,1 Kanäle
K.A.	5	+ 5,4 Kanäle	H.A.	2	+ 4,3 Kanäle
H.A.	5	+ 4,o Kanäle	H.A.	9	+ 3,7 Kanäle

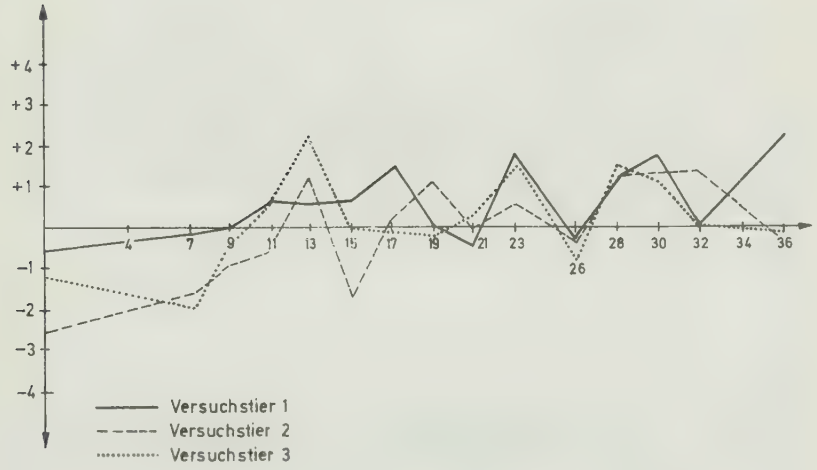


Abb. 5 Differenzkurven der Versuchstiere 1 - 3 aus der Versuchsgruppe I K.A.-Tiere

Die Differenzkurven der Versuchstiere 1 - 3 gleichen sich im Kurvenverlauf.

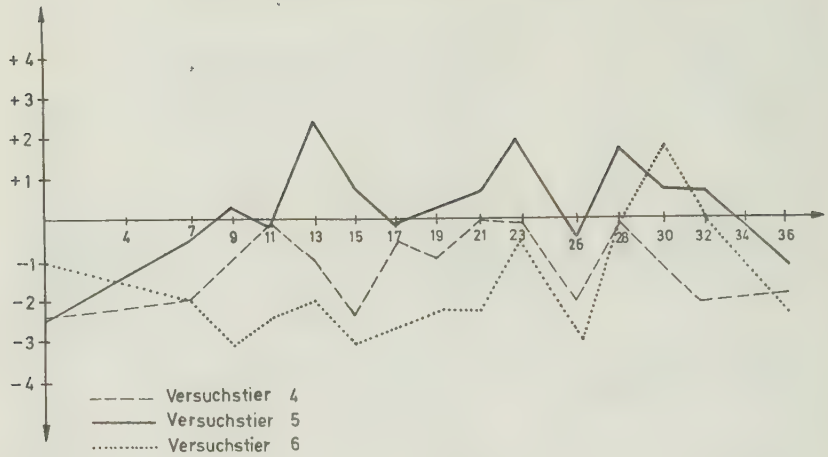


Abb. 6 Differenzkurven der Versuchstiere 4 - 6 aus der Versuchsgruppe I K.A.-Tiere

Die Differenzkurve des Versuchstieres 6 weicht im Gesamtverlauf von den Versuchstieren 4 und 5 ab.

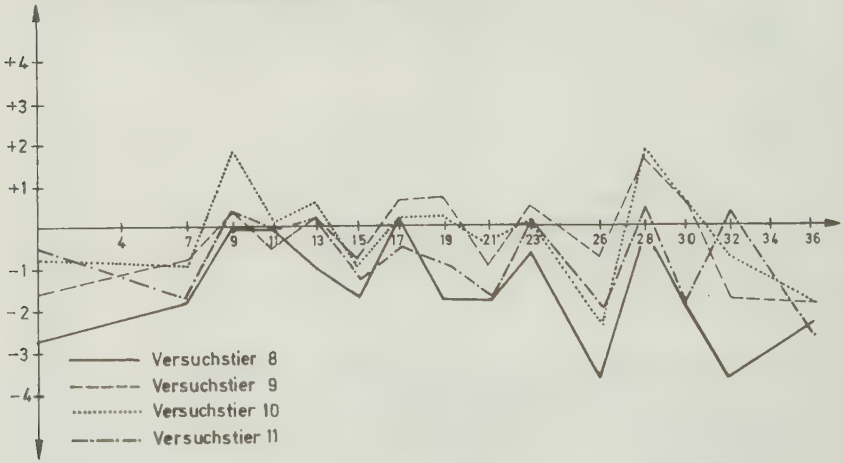


Abb. 7 Differenzkurven der Versuchstiere 8 - 11 aus der Versuchsgruppe I K.A.-Tiere

Die Differenzkurven der Versuchstiere 8 - 11 gleichen sich im Kurvenverlauf.

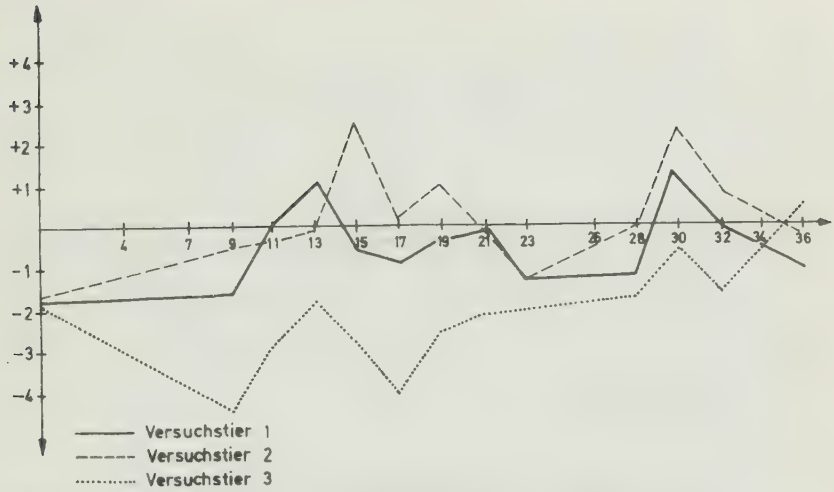


Abb. 8 Differenzkurven der Versuchstiere 1 - 3 aus der Versuchsgruppe II H.A.-Tiere

Die Differenzkurve des Versuchstieres 3 weicht im Gesamtverlauf von den Versuchstieren 1 und 2 ab.

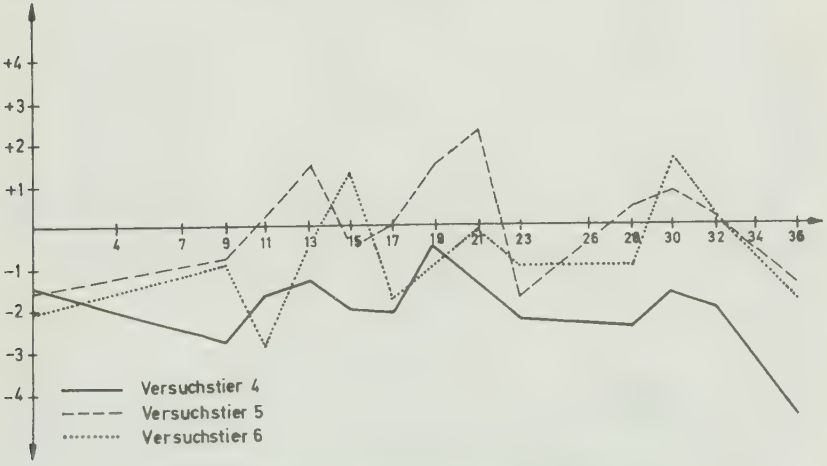


Abb. 9 Differenzkurven der Versuchstiere 4 - 6 aus der Versuchsgruppe II H.A.-Tiere

Die Differenzkurve des Versuchstieres 5 zeigt einen überdurchschnittlichen Anstieg gegenüber den Differenzkurven der anderen Versuchstiere.

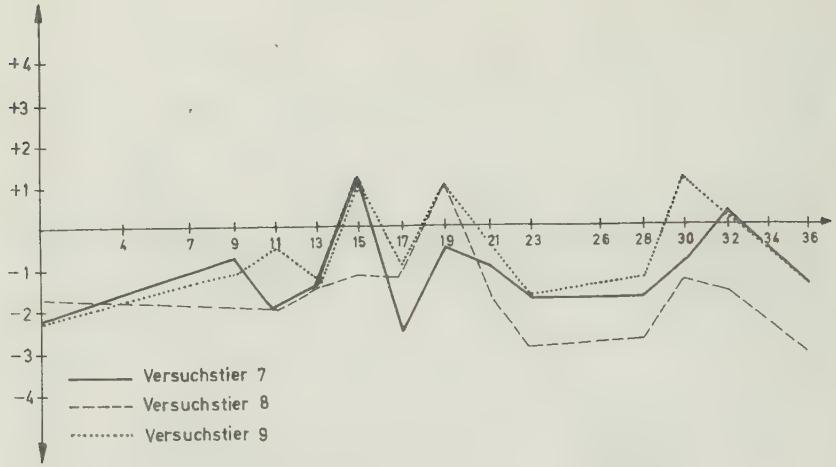


Abb. 1o Differenzkurven der Versuchstiere 7 - 9 aus der Versuchsgruppe II H.A.-Tiere

Die Differenzkurven der Versuchstiere 7 - 9 gleichen sich im Kurvenverlauf.

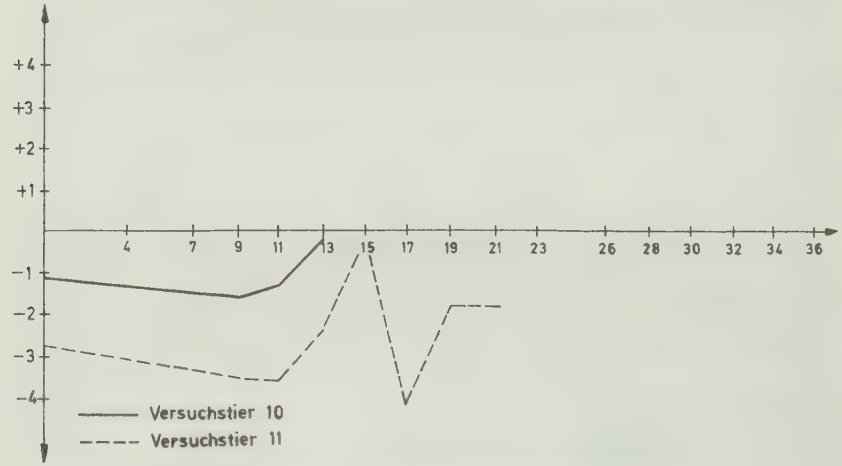


Abb. 11 Differenzkurven der Versuchstiere 1o und 11 aus der Versuchsgruppe II H.A.-Tiere

Die Differenzkurven der Versuchstiere 1o und 11 sind nicht vollständig, da das Versuchstier 1o am 13. Tag und das Versuchstier 11 am 23. Tag einen anaphylaktischen Schock erlitt.

Versuchstiere K.A.	19. Tag	21. Tag	23. Tag
1	x	x	x x
2			x
3	x	x x	x x
4	x	x	x x
5		x	x x
6		x	x x
8	x	x x	x x
9	x	x x	x x x
1o	x	x x	x x
11	x x	x x	x x x
Versuchstiere H.A.			
1	x x	x x	x x x
2	x	x	x x
3	x	x x	x x
4		x	x
5	x x	x	x x
6	x	x x	x x
7	x x x	x x x	x x x
8	x x	x x x	x x x
9		x	x x
11	x x x	x x x	x x x

Tabelle 4 Qualitative Hämolysezeichen im Serum der Versuchstiere (optische Schätzung)

x = geringfügig hämolytisch

xx = deutlich hämolytisch

xxx = sehr stark hämolytisch

Das Serum beider Versuchstiergruppen wurde zwischen dem 19. und 23. Tag qualitativ auf seinen Hämolysegrad untersucht. Das Serum der Versuchsgruppe II war deutlicher hämolytisch als das Serum der Versuchsgruppe I. Der Hämolysegrad des Serums läßt sich nicht unbedingt mit dem Verhalten der Kanallagen der EEV-Maxima in Korrelation bringen.

Aufgrund von Plasmatrübungen im Serum durch triglyceridreiche Lipoproteine ergibt die qualitative Bestimmung der Hämolysezeichen im Serum keinen objektiven Anhaltspunkt für den Hämolysegrad. Die quantitative Hämoglobinbestimmung ist aufwendig und technisch schwierig. Es wurde deshalb der Versuch unternommen, ein einfacheres Verfahren für die quantitative Hämoglobinbestimmung zu finden. Es wurde ein von LAMBRECHT und SEIDEL (1974) angegebenes Verfahren zur Beseitigung von Plasmatrübungen durch Polyanionenpräzipitation angewandt.

Material und Methodik zur Hämoglobinbestimmung

Lösungen:

Heparin

Liquemin-Ampullen, 5oo IE./ml, Hoffmann-La Roche, Grenzach.

$MgCl_2$-Lösung, 2 mol/l (eigene Herstellung).

Präzipitationstechnik

1. Dem Serum wurden 1o Vol. % einer Mischung von gleichen Teilen Heparinlösung und 2 mol/l $MgCl_2$-Lösung zugesetzt.
2. Nach kurzem Durchmischen und 5-minütigem Stehen bei Raumtemperatur wurde 1o Min. bei 3ooo U/min. zentrifugiert.
3. Die an der Oberfläche abgesetzten Lipoproteinpräzipitate wurden dekantiert.

Das Hämoglobin, welches sich nun in dem von Trübungen befreitem Serum befindet, wurde in das denaturierte Globin-Pyridin-Hämochrom übergeführt und spektrophotometrisch bei 55o nm bestimmt (HENNING, 1966).

Für die Überführung wurden folgende Reagenzien verwendet:

1o%iges Ammoniak

3%iges Wasserstoffsuperoxyd

Pyridin, chem. rein

Natrium-dithionit: frisch bereitete 2%ige wässrige Lösung

Ausführung:

1,o cm^3 Serum wird in einen Meßkolben gegeben, dazu 6,5 cm^3 1o%iges Ammoniak nebst o,5 cm^3 Pyridin und 2,o cm^3 frisch bereiteter 2%iger wässriger Natrium-dithionit-Lösung. Es wird sorgfältig gemischt.
Ein Leerwert wird mit 1,o cm^3 Serum, 5,5 cm^3 1o%iger Ammoniaklösung und 1,o cm^3 3%igem Wasserstoffsuperoxyd außer Pyridin und Natrium-dithionit wie oben versetzt. Gegen diesen Leerwert wird nach 5 Min. bei 55o nm abgelesen. Die Berechnung erfolgt nach einer Eichkurve.

Ergebnisse:

Versuchstiere H.A.	g%Hb	Versuchstiere K.A.	g%Hb
1	o,o9	1	o,o5
2	o,o9	2	o,o3
3	o,o9	3	o,o6
4	o,o6	4	o,o4
5	o,o8	5	o,o4
6	o,o9	6	o,o4
7	o,22	7	o,o8
8	o,11	8	o,o4
9	o,o7	9	o,o7
1o	o,o8	1o	o,o6
11	o,29	11	o,1o

S T A T I S T I K

Statistisch betrachtet wurden nur die Erythrocyteneinzelvolumina. Die EEV-Kurven der Versuchsgruppen wurden mit den Kurven der Kontrolltiere mittels t-Test verglichen. Bei einer Wahrscheinlichkeit von 8o % konnte bei Versuchsbeginn und Versuchsende ein signifikanter Unterschied zwischen Versuchstieren und Kontrolltieren in beiden Gruppen festgestellt werden. Zwischen dem 13. und 28. Versuchstag war in beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied feststellbar.

Mit Hilfe der Statistik kann folgende Aussage gemacht werden: Der Übergang von signifikant zu nicht signifikant bedeutet eine Kanalverschiebung, die anhand der Differenzkurven als Rechtsverschiebung anzusehen ist. Generell kann ein signifikanter Unterschied zwischen Versuchstieren und Kontrolltieren wahrscheinlich gemacht werden.

Die Statistik wurde mit Hilfe des Computers des Rechenzentrums der Eberhard-Karls-Universität Tübingen erstellt.[+)]

+) Herrn Diplom-Physiker Martin Ammann möchte ich für seine Anleitung zur Statistik danken.

D I S K U S S I O N

In der hier durchgeführten Untersuchung sollte festgestellt werden, ob wiederholte Antigenzufuhr Veränderungen an Erythrocyten verursachen kann. Diese Veränderungen müssen auch bei Zufuhr von einem Haptenkonjugat festzustellen sein, wenn dieses Antikörperbildung hervorruft. Mit einem Coulter Counter^{R} mit nachgeschaltetem Impulshöhenvielkanalanalysator sollten diese Veränderungen erfaßt werden.
Es wurden zwei verschiedene Gruppen von Antigenen zur Hyperimmunisierung verwendet:

1. Ein heterologes, zusätzlich jodiertes Protein (1o %-jodiertes Humanalbumin)
2. Ein homologes, aber ebenfalls hochjodiertes Protein (1o %-jodiertes Kaninchenalbumin)

Die einzelnen Kaninchen zeigten ein unterschiedliches Erythrocyteneinzelvolumen (EEV). Das durchschnittliche EEV-Maxima der Versuchstiere unterschied sich gegenüber den EEV-Maxima der Kontrolltiere in der Versuchsgruppe I um 1,92 Kanäle und in der Versuchsgruppe II um 1,94 Kanäle. Diese große Schwankungsbreite kann durch Rassenunterschiede und durch den unterschiedlichen Gesundheitszustand der Stalltiere bedingt sein (PINTOR, 1957).

Die durch die Hyperimmunisierung hervorgerufenen durchschnittlichen maximalen Veränderungen lagen bei der Versuchsgruppe I bei + 2,8 Kanälen und bei der Versuchsgruppe II bei + 2,3 Kanälen.

Einzelne Tiere wiesen größere Werte auf, teilweise bis zu + 5,4 Kanälen. Die Mittelwerte zeigten einen signifikanten Unterschied außerhalb der natürlichen und apparativen Volumenschwankungsbreite.
Fremdproteine führen zu einer Immunantwort. Einfacher gebaute Substanzen wie Jod, Ag, Hg - auch Haptene genannt -

können eine Immunantwort hervorrufen, wenn sie an Makromoleküle, meistens Proteine und Kohlenhydrate, gebunden werden.

Nach SHULMAN (1963) beträgt die Minimalfrist zur Antikörperbildung fünf bis sieben Tage. Erst nach Ablauf dieser Frist kann mit spezifischen Wirkungen im Organismus gerechnet werden. Wenn bestimmte Substanzen über einen längeren Zeitraum hinweg in ausreichender Dosis zugeführt werden, sind sie auf der Erythrocytenoberfläche nachweisbar. Die Vorstellung des multivalenten Bindungsvermögens und seiner großen Gesamtoberfläche, der eine Adsorptionsfähigkeit und Reinigungsfunktion im strömenden Blut zukommt, wurde von GRAMLICH u. MÜLLER (1963) bewiesen.
Die Adsorption von Immunkomplexen an die Erythrocytenoberfläche ist ein spezifischer Vorgang, der bei der Eliminierung von löslichen Antigen-Antikörperkomplexen nachgewiesen werden kann.
Sowohl das heterologe Albumin als Antigen wie auch das homologe γ-Globulin als Antikörper werden in Form eines Immunkomplexes stärker an die Erythrocytenoberfläche gebunden als die entsprechenden frei gelösten Proteine (GRAMLICH u. MÜLLER, 1963). Diese rein passive Adsorption führt zu Antigen-Antikörperreaktionen an der Erythrocytenoberfläche, deren Folge die Zellzerstörung und Hämolyse ist (DACIE, 1954). Die stärkste Bindung mit der Erythrocytenmembran geht das γ-Globulin ein. HUMPHREY (1967) wies das Entstehen von Läsionen in Zellmembranen durch die Wechselwirkung von Antikörper und Komplement nach. Durch den Verlust der osmotischen Resistenz infolge der Läsionen kommt es zum Anschwellen und Platzen der Erythrocyten (BORSOS, 1964).
In den eigenen Untersuchungen konnte eine Rechtsverschiebung (= Makrocytose) festgestellt werden, die aber nur bei einem Teil der Versuchstiere gut sichtbar war. Die als Makrocytose interpretierte Rechtsverschiebung der EEV-

Maxima konnte nur bis etwa 11 Tage nach der letzten Antigen-Injektion beobachtet werden. Das korreliert mit Beobachtungen von GRAMLICH (1966), der solchen Zustandsbildern das gleichzeitige Vorhandensein von Antigen und Antikörper im intravasalen System zugrunde legt. Die Diagnose hämolytische Anaemie kann nicht aus der Volumenverteilungskurve allein gestellt werden, da eine Rechtsverschiebung des EEV-Maximums ebenso gut für unspezifische Makrocytosen bei verschiedenen hämatologischen Krankheiten sprechen kann (KALLEE u. WECHSELBERGER, 1971). Charakteristisch für einen hämolytischen Zustand ist jedoch ein Abflachen der Kurvenschulter, bedingt durch eine Sphärocytose der Erythrocyten.

Die starken Schwankungen in der EEV-Kurve während des Versuches sind erklärbar durch die verkürzte Lebensdauer des Erythrocyten infolge der immunologischen Vorgänge. Nach NEUMANN (1969) leben geschädigte Erythrocyten bei hämolytischen Anaemien unter Corticoidbehandlung maximal 12 Tage. Wenn eine Messung in eine Phase fällt, in der eine Anzahl von Erythrocyten zugrunde gegangen ist, äußert sich dieses dann in einer Linksverschiebung der Kurve mit nachfolgender Rechtsverschiebung, die auf eine Vermehrung von unreifen makrocytären Formen durch Überspringen von Reifeteilungen und Retikulocyten zustandegekommen ist. Aus der Volumenverteilungskurve allein kann wiederum nicht beurteilt werden, ob eine Makrocytose durch Überspringen von Reifeteilungen, Retikulocytenausschwemmung oder immunologisch geschädigten Erythrocyten zustandegekommen ist. Außerdem kann eine Makrocytose bei bestehender Retikulocytose durch Mikrocytosen infolge Eisenmangels kompensiert werden.

Der Aussagekraft der Volumenverteilungskurve sind statistische Grenzen gesetzt. Die normale Schwankungsbreite zwischen den einzelnen Tieren ist zu groß, um mit einer einzigen Stichprobe feststellen zu können, ob eine Volumenverteilungskurve eine Rechtsverschiebung zeigt oder ob sie im Normalbereich liegt. Eine der Hauptfehlerquellen bei der Volumenmessung ist der Temperaturgang des spezifischen Widerstandes der Suspension, der etwa 3 %/^{o}C beträgt. Da eine exakte Thermostatisierung des Vorrates an Elektrolytflüssigkeit mit der vorhandenen Apparatur nicht möglich ist, wäre es notwendig, den Meßstrom so zu regulieren, daß das Produkt aus spezifischem Widerstand und Meßstrom automatisch konstant bleibt. Nur so können exakte Untersuchungen vorgenommen werden, die einen Vergleich der EEV-Kurven an verschiedenen Tagen ermöglichen. Die hier durchgeführten Versuche ließen aufgrund der hohen Fallzahl immerhin eine statistische Aussage zu.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Kaninchen wurden in zwei Versuchsgruppen zu je 11 Tieren aufgeteilt; 5 weitere Kaninchen dienten als Kontrolltiere. Die erste Gruppe (I) wurde mit 1o %-jodiertem Kaninchenalbumin, die zweite Gruppe (II) mit 1o %-jodiertem Humanalbumin hyperimmunisiert. An allen Tieren wurden in zweitägigen Abständen Erythrocyteneinzelvolumenverteilungskurven (EEV-Kurven) gemessen und die Kanallage des Maximums der EEV-Kurven bestimmt.

Die Maxima der EEV-Verteilungskurven verschoben sich im Laufe der Hyperimmunisierung bei beiden Versuchsgruppen im Vergleich zu den Kontrolltieren im Sinne der Makrocytose nach rechts. Die stärkste Rechtsverschiebung war gegen Ende der Hyperimmunisierung erreicht. Bei der Versuchsgruppe I betrug die stärkste Verschiebung im Mittel + 2,8 Kanäle, bei der Versuchsgruppe II + 2,2 Kanäle. Die geringe Verschiebung bei der Versuchsgruppe II kann durch eine höhere Antikörperbildung mit nachfolgender Beschleunigung des Erythrocytenabbaus und sekundärer Mikrocytose erklärt werden. Dies kann durch Anisocytose zu einer Kompensation der Rechtsverschiebung führen. Die Seren aller Versuchstiere waren gegen Ende der Hyperimmunisierung makroskopisch hämolytisch.

In beiden Versuchsgruppen konnte ein signifikanter Unterschied zu den Kontrolltieren festgestellt werden. Nach diesen Befunden kann eine übermäßige Jodierung homologer Serumproteine zu einer messbaren immunologischen Reaktion gegen Jodproteine führen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BECKER, H.J. und J. HOLLENDER: Die Volumenverteilungskurven der Erythrocyten in der klinischen Diagnostik.
Verh.Dtsch.Ges.inn.Med.
73, 421 - 422 (1967)

2. BESSMAN, J.D. and JOHNSON, K.R.: Erythrocyte Volume Distribution in Normal and Abnormal Subjects.
Blood 46, 369 - 379 (1975)

3. BÖHME, A.: Beobachtungen der Erythrocyteneinzelvolumenverteilungskurve und anderer Blutwerte an Kaninchen nach akutem Blutverlust.
Inaug.Diss.Medizin, Tübingen (1974)

4. BORSOS, T., DOURMASHKIN, R.R. and HUMPHREY, J.H.: Lesions in Erythrocyte Membranes caused by Immune Haemolysis.
Nature (London) 2o2, 251 (1964)

5. BOYDEN, S.V. and ANDERSON, M.E.: Agglutination of normal erythrocytes in mixtures of antibody and antigen and haemolysis in the presence of complement.
Brit.J.exp.Pathol. 36, 162 (1955)

6. BRITTIN, M.G., BRECHER, G., JOHNSON, A.C. and STUART, J.: Spurious macrocytosis of antibody-coated red cells.
Am.J.Clin.Pathol. 52, 237 - 241 (1969)

7. BULL, B.S.: On the Distribution of Red Cell Volumes.
Blood 31, 5o3 - 515 (1968)

8. COLLIER, H.: Some problems in the use of the Coulter Counter for erythrocyte total counts and volume distribution.
J.clin.Pathol. (London) 21, 179 - 182 (1968)

9. CONRAD, E.R. and INGRAHAM, S.J.: Rate of hemolytic antibody production by single cells in vivo in rabbits.
J. Immunol. 112, 17 - 25 (1974)

1o. DACIE, J.V.: The Haemolytic Anaemias Part 2: The auto - immune anaemias.
Churchill, London (1954)

11. DACIE, J.V.: The Haemolytic Anaemias Part 4: Drug - induced Anaemias.
Churchill, London (1954)

12. DOURMASHKIN, R.R. and ROSSE, W.F.: Morphologic changes in membranes of red blood cells undergoing hemolysis.
Amer.J.Med. 41, 699 - 71o (1966)

13. ENGLAND, J.M. and DOWN, M.C.: Red-Cell-Volume Distribution Curves and the Measurement of Anisocytosis.
Lancet 1, 7o1 - 7o3 (1974)

14. ENGLAND, J.M. and DOWN, M.C.: Measurement of the Mean Cell Volume using Electronic Particle Counters.
Br.J.Haematol. 32, 4o3 - 4o9 (1976)

15. FIRKIN, B.G. and WILEY, J.S.: The Red Cell Membrane and Its Disorders.
Progress in Hematology, Volume V
Grune and Stratton Verlag, New York u. London (1966)

16. FISCHER, J.: Herstellung von erythrocytenähnlichen Testpartikeln aus synthetischen Textilfasern.
Inaug.Diss.Zahnheilkunde, Tübingen (197o)

17. GEHRMANN, G.: Hämolyse und hämolytische Anämie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1969)

18. GRAMLICH, F.: Die Rezeptorfunktion des Erythrocyten.
S. Karger Verlag (1966)

19. GRAMLICH, F. und MÜLLER, H.E.: Über die Bindung löslicher Antigen-Antikörper-Komplexe an Erythrocyten.
Acta haemat. (Basel) 3o, 153 (1963)

2o. HENNING, N.: Klinische Laboratoriumsdiagnostik. Münchner-Berlin-Wien 3. A., 183 (1966)

21. HUMPHREY, J.H., DOURMASHKIN, R.R. and PAYNE, S.N.: The Nature of Lesions in Cell Membranes Produced by Action of C`and Antibody. Immunopathology, Vth International Symposium. Schwabe u. Co. Verlag, Basel/Stuttgart (1967)

22. HUMPHREY / WHITE: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1971)

23. INTERNATIONALES KOMITEE FÜR STANDARDISIERUNG IN DER HÄMATOLOGIE (ICSH): Standardmethoden für die Bestimmung des Erythrocyten- und Plasmavolumens. Blut 29, 422 - 433 (1974)

24. JACOBI, H., HANSTEIN, A., HANSTEIN, W. und KÜNZER, W.: Erfahrungen mit einem elektronischen Erythrocytenzählgerät bei Zählungen und Volumenverteilungskurven. Klin.Wochenschr. 45, 154 - 16o (1967)

25. JANDL, J.H.: Mechanism of immune haemolysis in vivo. Injury, Inflammation and Immunity. Williams a. Wilkins, Baltimore (1964)

26. KACHEL, V.: Eine elektronische Methode zur Verbesserung der Volumenauflösung des Coulter-Partikelvolumenmeßverfahrens. Blut 27, 27o - 274 (1973)

27. KACHEL, V., METZGER, H. und RUHENSTROTH-BAUER, G.: Der Einfluß der Partikeldurchtrittsbahn auf die Volumenverteilungskurven nach dem Coulter-Verfahren. Z.Ges.Exp.Med. 153, 331 - 347 (197o)

28. KALLEE, E., LOHSS, F. und OPPERMANN, W.: Trichloressigsäure-Aceton-Extraktion von Albuminen aus Seren und Antigen-Antikörper-Präzipitaten. Zeitschrift für Naturforschung 12, 777 - 783 (1957)

29. KALLEE, E. und WECHSELBERGER, E.: Volumenverteilungskurven und Durchmesser von Erythrocyten bei einigen Krankheiten. Ärztl.Forsch. 25, 381 - 395 (1971)

3o. LAMBRECHT, J. und SEIDEL, D.: Enzymdiagnostik bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie: Beseitigung von Plasmatrübungen durch selektive Polyanionenpräzipitation von Plasmalipoproteinen. Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 4, 154 - 158 (1974)

31. LUSHBAUGH, C.C., BASMANN, N.J. and GLASCOCK, B.: Electronic Measurement of Cellular Volumes. II. Frequency Distribution of Erythrocyte Volumes. Blood 2o, 241 (1962)

32. METZGER, H., VALET, G., KACHEL, V., RUHENSTROTH-BAUER, G.: The Calibration by Electronic Means of Coulter Counter for the Determination of absolute Volume of Particles.
Blut 25, 179 - 184 (1972)

33. NEUMANN, W., SIERING, H., CORRENS, J.H. und UNVERRICHT, A.: Erythrocytenüberlebensdauer bei hämolytischen Anämien.
Zschr.inn.Med. 22, 797 - 8o1 (1969)

34. PINTOR, P.P. and GRASSINI, V.: Individual and seasonal variations of haematological values in normal male rabbits.
Statistical survey.
Acta haematol. (Basel) 17, 122 - 128 (1957)

35. PRESSMAN, D. and STERNBERGER, L.A.: The relative rats of jodination of serum components and the effect of jodination on antibody activity.
J.amer.chem.Soc. 72, 2226 (195o)

36. RICE, W.E.: Accurate Nephelometric Enumeration of Erythrocytes in Human Blood.
Amer.J.Clin.Pathol. 62, 685 - 687 (1974)

37. RIEGER, K.P.: Einfluß der Hyperimmunisierung auf das Erythrocytenvolumen beim Kaninchen.
Inaug.Diss.Zahnheilkunde, Tübingen (1975)

38. ROSSE, W.F. and DACIE, J.V.: Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria red blood cells. II. The role of complement components in the increased sensitivity of PNH to immune lysis.
J.Clin.Invest. 45, 749 (1966)

39. SCHEUFLER, H.: Zur Verwendung des automatischen Teilchenzählers ZG 1 für die Blutkörperchenzählung im biologischen Laboratorium.
Z.med.Labortechnik 8, 157 - 161 (1967)

4o. SCHUBOTHE, H. und MIDDENDORF, K.: Erythrocytenveränderungen während der mechanischen Hämolyse.
Folia haematologica 9, 39o - 397 (1964)

41. SHULMAN, N.R.: Mechanism of cell destruction in individuals sensitized to foreign antigens and its implications in autoimmunity.
Ann.intern.Med. 6o, 5o6 (1964)

42. SHULMAN, N.R. and RALL, J.E.: Mechanism of blood cell destruction in inviduals sensitized to foreign antigens.
Trans.Ass.Amer.Physicians 75, 72 (1963)

43. SORKIN, E.: The Cellular Uptake of Antigens and Their Intracellular Fate. Mechanisms of Antibody Formation.
Publ.House Czechosl.Acad.Sci. 61 (196o)

44. SUTHERLAND, D.A., MINTON, P. and LANZ, H.: The lifespan of the rabbit erythrocyte. Acta Haematol. (Basel) 21, 37 - 42 (1959)

45. SWISHER, S.N.: Studies of the mechanisms of erythrocyte destruction initiated by antibodies. Trans.Ass.Amer.Physicians 67, 124 (1954)

46. THOM, R., HAMPE, H. und SAUERBREY, G.: Die elektronische Volumenverteilung von Blutkörperchen und ihre Fehlerquellen. Gesamt.Exp.Med. 151, 331 - 349 (1969)

47. THOM, R. und KACHEL, V.: Fortschritte für die elektronische Größenbestimmung von Blutkörperchen. Blut 21, 48 - 5o (197o)

48. THOMAS, R.A., CAMERON, B.F. and LEIF, R.C.: Computer based Electronic Cell Volume Analysis with the Amac-II-Transducer. J.Histochem.Cytochem. 22, 626 - 641 (1974)

49. THOMAS, W.D., ROBERTS, K.W. and TALMAGE, W.D.: Antibody Synthesis in synchronized Mouse Spleen Cells during the secondary Response to Sheep Erythrocytes in Vitro. J.Immunol. 114, 343 - 347 (1975)

5o. WECHSELBERGER, E.: Apparative Volumenverteilungsanalyse von Blutzellen. Blut 2o, 112 - 124 (197o)

51. WEICKER, H.: Maß-, Mengen-, Zeitrelation zwischen Retikulocyten und Erythrocyten. Folia Haematol. 76, 329 - 341 (1959)

52. WEIGLE, W.O.: The Elimination of Heterologous Proteins from the Blood of Animals. Mechanisms of Antibody Formation. Publ.House Czechosl. Acad.Sci. Prague p. 53 (1960)

53. WILSON, G.S. and MILES, A.A.: Principles of Bakteriology and Immunity. Volume I. Edward Arnold LTD. London (1966)

Für die Überlassung des Themas und für die stets gewährte Hilfe danke ich Herrn Professor Dr. med. E. Kallee recht herzlich.

Bei Herrn Diplom-Chemiker Steiner möchte ich mich für die Anleitung zur Antigenherstellung ebenfalls bedanken.

L E B E N S L A U F

Am 25.9.1952 wurde ich, Rüdiger Eduard Riveroff, als Sohn des Postbeamten Paul Riveroff und der Postangestellten Margot Riveroff, geb. Rusch, in Reutlingen geboren.

Von Frühjahr 1959 bis Ostern 1963 besuchte ich die Volksschule in Reutlingen. Von April 1963 bis Juni 1971 besuchte ich das Johannes-Kepler-Gymnasium in Reutlingen und erhielt dort im Juni 1971 die allgemeine Hochschulreife.

Von Oktober 1971 bis April 1972 leistete ich Grundwehrdienst. Von April 1972 bis Juni 1977 studierte ich in Tübingen Zahnmedizin. Das Vorphysikum legte ich am 28.3.1973, das Physikum am 11.1o.1974 und das Staatsexamen am 22.6.1977 ab.